

· 药理 ·

## 基于NLRP3炎症小体探讨补冲调经方对 卵巢储备功能减退模型大鼠卵巢组织铁死亡的作用及机制

王艺绚<sup>1,2</sup>, 李祖昂<sup>1,2</sup>, 郑允玲<sup>1</sup>, 李培成<sup>1</sup>, 罗颂平<sup>3</sup>, 朱玲<sup>3\*</sup>

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405;

2. 广州中医药大学岭南医学研究中心, 广州 510405;

3. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

**[摘要]** 目的:从NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体和铁死亡角度探讨补冲调经方对卵巢储备功能减退(DOR)大鼠的疗效作用机制。方法:将48只雌性SD大鼠随机分为正常组、模型组、补冲调经方低、中、高剂量组和MCC950组,每组8只。除正常组外,其余各组大鼠均于颈背部皮下注射D-半乳糖制备DOR大鼠模型。从造模第15天起,对补冲调经方低、中、高剂量组大鼠分别以14.4、28.8、57.6 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>的剂量灌胃。MCC950组大鼠予腹腔注射MCC950 10 mg·kg<sup>-1</sup>,隔日1次。各组连续给药4周。阴道脱落细胞涂片观察大鼠动情周期;苏木素-伊红(HE)染色观察卵巢中卵泡和黄体发育情况;生化及酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清性激素及白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)检测卵巢NLRP3炎症小体、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)、转铁蛋白受体1(TFR1)和谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)的mRNA和蛋白表达;氧化应激试剂盒检测卵巢超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平。结果:实验过程中补冲调经方高剂量组有1只大鼠死亡,最终共有47只大鼠纳入指标检测和统计。与正常组比较,模型组大鼠动情周期明显紊乱,闭锁卵泡数量增多,血清性激素水平明显紊乱。卵巢组织NLRP3炎症小体、ACSL4和TFR1的mRNA和蛋白表达上调,而GPX4的mRNA和蛋白表达显著下调( $P<0.01$ ),卵巢SOD活性显著降低,MDA含量升高( $P<0.01$ )。药物干预后,大鼠动情周期基本恢复规律,各级卵泡结构更完整且数量明显增多,血清性激素和IL-1 $\beta$ 水平显著改善,卵巢NLRP3炎症小体、ACSL4和TFR1的mRNA和蛋白表达下调,GPX4的mRNA和蛋白表达显著上调,卵巢氧化应激水平明显减轻( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),其中尤以补冲调经方高剂量组和MCC950组效果明显。结论:DOR大鼠卵巢发生炎性损伤和铁死亡,补冲调经方能够抑制卵巢NLRP3炎症小体,减轻卵巢铁死亡程度,提高卵巢储备。

**[关键词]** 卵巢储备功能减退; 补冲调经方; NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体; 铁死亡; 氧化应激

**[中图分类号]** R271;R285;R711 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2025)03-0040-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20241241

**[网络出版地址]** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240805.1849.007>

**[网络出版日期]** 2024-08-06 10:18:04

### Exploring Effect of Buchong Tiaojing Prescription on Ferroptosis in Ovarian Tissue of Rat Model of Diminished Ovarian Reserve and Its Mechanism from Perspective of NLRP3 Inflammasome

WANG Yixuan<sup>1,2</sup>, LI Zuang<sup>1,2</sup>, ZHENG Yunling<sup>1</sup>, LI Yucheng<sup>1</sup>, LUO Songping<sup>3</sup>, ZHU Ling<sup>3\*</sup>

(1. The First Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Lingnan Medical Research Center of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[收稿日期]** 2024-05-17

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82174418);罗颂平全国名中医工作室建设项目(国中医药人教函[2022]5号);罗颂平全国名老中医专家传承工作室建设项目(国中医药人教函[2022]75号)

**[第一作者]** 王艺绚,在读博士,从事生殖障碍及生殖健康的中医药研究,E-mail:wxyeah@163.com

**[通信作者]** \*朱玲,博士,主任医师,博士生导师,从事女性生殖健康的中医药研究,E-mail:2275898821@qq.com

**[Abstract]** **Objective:** To explore the therapeutic mechanism of Buchong Tiaojing prescription for rats with diminished ovarian reserve (DOR) from the perspectives of nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome and ferroptosis. **Methods:** A total of 48 female SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, low, medium, and high dose groups of Buchong Tiaojing prescription, and an MCC950 group, with eight rats in each group. Except the normal group, all the other groups were injected subcutaneously on the back of the neck with *D*-galactose to prepare the DOR rat model. From the 15th day of modeling, the rats in the low, medium, and high dose groups of Buchong Tiaojing prescription were subjected to gavage daily at doses of 14.4, 28.8, 57.6 g·kg<sup>-1</sup>, respectively. Rats in the MCC950 group were injected intraperitoneally with MCC950 at a dose of 10 mg·kg<sup>-1</sup>, once every other day. The interventions of all the groups lasted for 4 weeks. The estrous cycle of the rats was observed with vaginal exfoliated cell smear. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe the development of follicles and corpus luteum in the ovary. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to detect the levels of serum sex hormones and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) and Western blot assay were performed to detect the mRNA and protein expression of NLRP3 inflammasome, acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4), transferrin receptor 1 (TFR1), and glutathione peroxidase 4 (GPX4), and oxidative stress kits were used to detect ovarian superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels. **Results:** During the experiment, one rat died in the high dose group of Buchong Tiaojing prescription, and a total of 47 rats were finally included in the index tests and statistics. Compared with those in the normal group, rats in the model group had significantly disturbed estrous cycles, increased number of atretic follicles, and significant disorder of serum sex hormones. The mRNA and protein expression of NLRP3 inflammasome, ACSL4, and TFR1 in ovarian tissue was up-regulated ( $P<0.01$ ), while that of GPX4 was significantly down-regulated ( $P<0.01$ ). The SOD content in the ovary was decreased significantly, while the MDA level was increased ( $P<0.01$ ). After drug intervention, the estrous cycle of rats was basically resumed, and the follicles at all levels were more structurally intact and significantly increased in number. Additionally, the levels of serum sex hormones and IL-1 $\beta$  were significantly improved. The mRNA and protein expression of NLRP3 inflammasome, ACSL4, and TFR1 were down-regulated, while that of GPX4 was significantly up-regulated, and the ovarian oxidative stress was alleviated ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), especially in the high dose group of Buchong Tiaojing prescription and the MCC950 group. **Conclusion:** Inflammatory injury and ferroptosis occur in the ovaries of DOR rats, and the Buchong Tiaojing prescription is able to inhibit ovarian NLRP3 inflammasome, alleviate the degree of ovarian ferroptosis, and improve ovarian reserve.

**[Keywords]** diminished ovarian reserve; Buchong Tiaojing prescription; nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome; ferroptosis; oxidative stress

卵巢储备功能减退(DOR)是一种以卵母细胞数量或质量下降为主要特征的卵巢功能障碍,是女性常见的生殖内分泌疾病之一<sup>[1]</sup>。目前,DOR造成的不孕在女性不孕症患者中占15%~25%,由此引发的生育问题及出生人口质量问题备受关注<sup>[2]</sup>。研究表明,DOR的发生与卵巢慢性无菌性炎症及细胞铁死亡密切相关<sup>[3-4]</sup>。NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体在炎症调节中发挥着关键作用,其表达异常能够引起卵巢炎性损伤、氧化应激加剧和卵巢功能减退等<sup>[5]</sup>。铁死亡是一种程序性细胞死亡形式,机体过量的游离活性铁和活性氧(ROS)引起脂质过氧化,导致细胞死亡。现已知NLRP3炎症小体和铁死亡在氧化应激加剧的衰老卵巢中发挥重要作用,然而两者间交互机制在DOR发病中有待进一步研究<sup>[6]</sup>。

目前针对卵巢功能的逆转尚无有效治疗,现有的临床治疗手段仅能缓解症状,无法从根本上提高卵巢储备,且存在伦理争议和不良反应<sup>[7]</sup>。全国名中医罗颂平教授认为,DOR的病机本质为肾脾两虚,肝郁气滞,临床常采取补肾健脾、疏肝养血的治

疗大法。补冲调经方是罗教授自拟,专门用于治疗DOR的经验方,对改善卵巢储备功能、预防及延缓DOR的发病临床效果显著<sup>[8-9]</sup>。现代药理学研究指出,补冲调经方中的活性成分如特女贞苷、藁本内酯、姜黄素等能够显著改善细胞或机体的炎症损伤状态,降低氧化应激水平<sup>[10-12]</sup>。为进一步揭示补冲调经方治疗DOR的分子机制,本研究拟从NLRP3炎症小体和铁死亡角度探讨其对卵巢储备功能的影响,以期为该方的临床应用提供依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级雌性SD大鼠,8周龄,体质量(200±20)g,购自广东省医学实验动物中心,实验动物许可证号SYXK(粤)2022-0002。饲养于广州中医药大学第一附属医院实验中心SPF级动物房,室温20~26℃,相对湿度40%~70%,昼夜循环,保持12h光照,自由摄食、饮水。本动物实验经过广州中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会审查批准,编号GZTCMF1-20240019。

**1.2 药物及试剂** 补冲调经方由菟丝子20g、女贞子15g、党参15g、当归10g、郁金10g等中药组成

(全方生药量共为140 g)。中药饮片购自广州中医药大学第一附属医院,经广州中医药大学第一附属医院主任药师唐洪梅教授鉴定均符合2020年版《中华人民共和国药典》。饮片经煎煮、过滤、微火浓缩、-80℃冰箱冻存后,置于冻干机中冻干4~5 d,得到补冲调经方冻干粉。临用时称取所需量的冻干粉溶于纯水中,配置成质量浓度分别为1.44、2.88、5.76 g·mL<sup>-1</sup>的补冲调经方灌胃液。*D*-半乳糖(*D*-gal,大连美仑生物技术有限公司,货号MB1853);NLRP3抑制剂MCC950(美国GlpBio公司,货号256373-96-3);大鼠雌二醇(E<sub>2</sub>)、促卵泡激素(FSH)、抗缪勒管激素(AMH)、大鼠白细胞介素-1β(IL-1β)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,货号分别为E-OSEL-R0001、E-EL-R0391、E-EL-R3022、E-EL-R0012);苏木素-伊红(HE)染色液(无锡市江原实业技贸有限公司,批号231023);鼠转铁蛋白受体1(TFR1)抗体、鼠谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)抗体、兔NLRP3抗体(英国Abcam公司,货号分别为ab269513、ab252833、ab263899);兔酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)、山羊抗小鼠IgG(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为22401-1-AP、60004-1-Ig、RGAR001、RGAM001);兔凋亡相关斑点样蛋白(ASC)抗体、胱天蛋白酶-1(Caspase-1)抗体(沈阳万类生物科技有限公司,货号分别为WL02462、WL03450);反转录试剂预混液、SYBR Green预混型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司,货号分别为AG11708、AG11701);丙二醛(MDA)检测试剂盒、总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号分别为S0131S、S0101S)。

**1.3 仪器** KD-2258型石蜡切片机、KD-BM型组织包埋机(金华市科迪仪器设备有限公司);Power Pac™型通用蛋白电泳仪、电转仪、T100™ Thermal Cycler 逆转录合成仪(美国Bio-Rad公司);QuantStudio3型Real-time PCR仪、Multiskan™ FC型酶标仪(美国Thermo Fisher公司);Pannoramic MIDI型数字病理切片扫描仪(匈牙利3D Histech公司);IX71型显微镜(日本Olympus公司)。

## 2 方法

**2.1 分组、造模和给药** SD大鼠适应性喂养1周后,每日上午10:00进行阴道脱落细胞涂片,将有

2个完整动情周期的48只大鼠纳入实验。根据随机数字表法,将大鼠分为6组:正常组、模型组、补冲调经方低、中、高剂量组和MCC950组,每组8只。除正常组外,其余各组大鼠均参照《药理学实验》和文献[13]方法于颈背部皮下注射*D*-gal(200 mg·kg<sup>-1</sup>,每日1次,连续注射42 d)制造DOR大鼠模型。从造模第8天开始每日观察大鼠阴道脱落细胞涂片,涂片显示动情周期明显延长(≥6 d)或在某一阶段停滞无改变≥3 d者为动情周期紊乱,提示造模成功<sup>[14]</sup>。正常组大鼠皮下注射相同体积的生理盐水。

从造模第15天起,对除正常组和模型组外的4个组进行给药干预。参照大鼠体表面积换算公式<sup>[15]</sup>将补冲调经方的成人常用剂量换算成等效剂量,低、中、高剂量组分别为大鼠等效剂量的1、2、4倍,即灌胃剂量分别为14.4、28.8、57.6 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。正常组和模型组给予10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>生理盐水灌胃,MCC950组大鼠予腹腔注射MCC950 10 mg·kg<sup>-1</sup>,隔日1次。各组连续给药干预4周,至取材日。

**2.2 标本采集** 末次给药后大鼠禁食不禁水12 h,腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液50 mg·kg<sup>-1</sup>麻醉,取腹主动脉血液4 mL,于离心管中静置后离心,取上清冻存,用于后续检测血清激素和炎症因子浓度。用消毒剪刀摘取两侧卵巢,其中右侧卵巢放于4%多聚甲醛溶液中,用于HE染色;左侧卵巢存于液氮中,用于提取RNA和蛋白质。

**2.3 阴道脱落细胞涂片** 将生理盐水浸润的医用棉签插入大鼠阴道约0.5 cm处,顺时针转动2圈,取出后将棉签上的分泌物在干净的黏附性载玻片上均匀涂抹,自然晾干。滴加适量的苏木素染液浸染3 min;1%盐酸乙醇分色数秒,流水冲洗载玻片;滴加适量的伊红染液染色5 min,流水冲洗;自然干燥后于倒置显微镜下观察。

**2.4 ELISA检测血清性激素及炎症因子水平** 按试剂盒操作步骤进行,使用酶标仪在450 nm波长进行吸光度*A*检测。按照说明书要求采用Origin软件绘制标准品的四参数拟合模型,计算出样品中激素和炎症因子的实际浓度。

**2.5 HE染色法检测卵巢组织病理状态** 卵巢组织在4%多聚甲醛溶液中固定48 h后,脱水、浸蜡、石蜡包埋、切片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水、HE染色、中性树胶封片、晾干,在20倍和40倍显微镜视野下观察卵巢中卵泡和黄体发育情况。

**2.6 Real-time PCR检测大鼠卵巢组织目的基因的mRNA表达** 用随机数字法选取每组3只大鼠的卵

巢组织样本约30 mg/只, TRIzol法提取RNA, 并测定浓度。采用试剂盒将RNA逆转录为cDNA, 并配置成20 μL反应体系。反应程序: 95 °C预反应10 min, 95 °C反应15 s, 60 °C退火1 min, 40个循环。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 以GAPDH为内参基因, 采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算目的基因的mRNA相对表达水平, 引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
NLRP3	上游 CCAGGAGTCTTTGCGGCTA	145
	下游 GCCTTTTTCGAACTTGCCGT	
ASC	上游 ACAGTACCAGGCAGTTCGTG	143
	下游 GGTCTGTCACCAAGTAGGGC	
Caspase-1	上游 GACCGAGTGGTTCCTCAAG	108
	下游 GACGTGTACGAGTGGGTGTT	
ACSL4	上游 AGAATCATGCGGTGCTGGAA	258
	下游 TCACCAGTGCAAAACACCT	
TFR1	上游 GTTTCTGCCAGCCCCCTATT	213
	下游 CACCTCTGCTGTACGAA	
GPX4	上游 ACGCCAAAGTCCTAGGAAGC	157
	下游 CTGCGAATTCGTGCATGGAG	
GAPDH	上游 TGTGAACGGATTGGCCGTA	183
	下游 ACCAGCTTCCCATTCTCAGC	

**2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠卵巢组织目的蛋白的表达** 取卵巢组织30 mg, 加入RIPA裂解液提取总蛋白。BCA测定蛋白浓度, 上样、SDS凝胶电泳、湿式电转, 封闭后在4 °C环境下一抗孵育过夜(NLRP3、ASC、Caspase-1、GPX4, 1:1 000; ACSL4, 1:2 000; TFR1, 1:5 000; GAPDH, 1:10 000)。次日洗膜、室温孵育二抗(1:5 000)后显影。使用Image J软件对条带进行测量和分析, 所有指标均以GAPDH作为内参对照。

**2.8 氧化应激参数测定** 参照试剂盒说明书, 采用WST-8法检测卵巢组织SOD活性, 最终结果以SOD活力单位(U·g<sup>-1</sup>蛋白)表示; 采用硫代巴比妥酸(TBA)显色反应检测组织MDA含量, 最终结果以μmol·g<sup>-1</sup>蛋白表示。

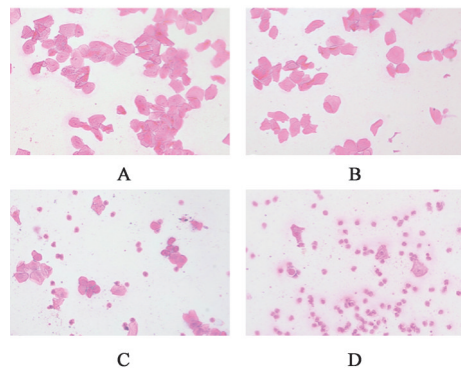
**2.9 统计学分析** 使用Graphpad 10.1进行数据分析及绘图, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据进行正态性和方差齐性检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用两独立样本t检验, 分类资料比较采用卡方检验, 当统计数据中存在1个t值<1或1/5

及以上的t值≤5, 则采用Fisher确切概率法, P<0.05表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对DOR大鼠生理状况的影响** 正常组大鼠生长状况良好, 饮食正常, 皮毛光滑光亮, 精神活泼, 而模型组大鼠精神状态萎靡, 行动迟缓, 毛色黯淡, 进食量和饮水量均明显减少, 体质量减轻, 尿色发黄; 药物干预后, 用药组健康状况较模型组明显改善, 其中尤以补冲调经方中、高剂量组和MCC950组改善突出。实验期间, 补冲调经方高剂量组死亡1只, 推测是由于药液浓度偏大, 灌胃时大鼠挣扎, 药液呛入气管窒息而死。

**3.2 对DOR大鼠动情周期的影响** 正常组大鼠动情周期正常, 均以4~5 d为1个周期, 且各期细胞形态清晰。与正常组比较, 模型组大鼠动情周期明显紊乱, 动情间期时间延长, 各期细胞分类不明显, 提示造模成功。给药结束后, 补冲调经方低、中、高剂量组及MCC950组大鼠动情周期基本恢复规律, 且补冲调经方高剂量组大鼠的动情期时长及角化上皮细胞数量接近正常组。见图1、表2。



注: A. 动情前期; B. 动情期; C. 动情后期; D. 动情间期

图1 大鼠阴道脱落细胞形态

Fig. 1 Morphology of vaginal exfoliated cells in rats

表2 大鼠动情周期紊乱情况

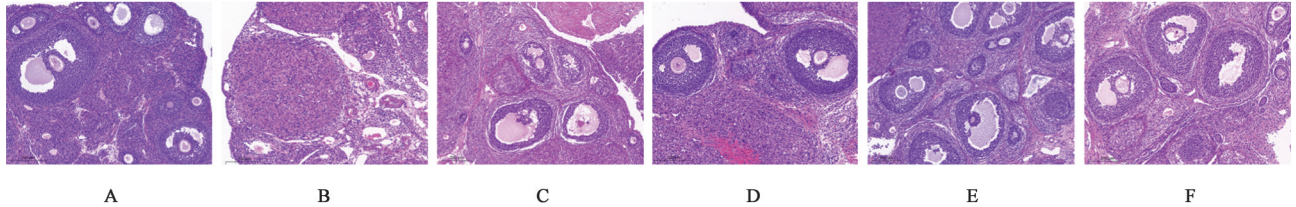
Table 2 Disorder rate of estrus cycle

组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	动情周期紊乱率/%
正常组	8		0.0
模型组	8		100.0 <sup>2)</sup>
补冲调经方低剂量组	8	14.4	37.5 <sup>4)</sup>
补冲调经方中剂量组	8	28.8	25.0 <sup>4)</sup>
补冲调经方高剂量组	7	57.6	0.0 <sup>4)</sup>
MCC950组	8	0.01	12.5 <sup>4)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01; 与模型组比较<sup>3)</sup>P<0.05, <sup>4)</sup>P<0.01(表3-表6同)

**3.3 对DOR大鼠卵巢组织结构的影响** 正常组大鼠卵巢结构正常,卵泡数量丰富,可见各级卵泡分布,生长卵泡中卵泡液丰富,新鲜黄体散在可见。模型组大鼠卵巢组织中闭锁卵泡数量增多,各级卵

泡数量减少,成熟卵泡几乎不可见。与模型组比较,各药物组卵巢结构更加紧凑,各级卵泡结构更完整且数量明显增多,卵巢血供功能明显恢复。见图2。



注:A.正常组;B.模型组;C.补冲调经方低剂量组;D.补冲调经方中剂量组;E.补冲调经方高剂量组;F.MCC950组(图3同)

图2 补冲调经方对各组大鼠卵巢组织结构的影响(HE,×100)

Fig. 2 Effect of Buchong Tiaojing prescription on organizational structure of ovaries of rats in various groups (HE, ×100)

**3.4 对DOR大鼠血清激素和炎症因子水平的影响** 与正常组比较,模型组大鼠血清FSH和IL-1 $\beta$ 水平显著升高,AMH和E<sub>2</sub>水平显著降低( $P<0.01$ );与

模型组比较,补冲调经方高剂量组和MCC950组FSH和IL-1 $\beta$ 水平明显下降,而E<sub>2</sub>和AMH水平明显提高( $P<0.05, P<0.01$ )。见表3。

表3 补冲调经方对DOR大鼠血清激素和炎症因子水平的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Effect of Buchong Tiaojing prescription on serum hormone and inflammatory factor levels in DOR rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FSH/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	E <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup>	AMH/mg·L <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /ng·L <sup>-1</sup>
正常组	8		111.18±20.02	183.99±3.80	8.23±2.61	12.09±4.99
模型组	8		141.33±23.20 <sup>2)</sup>	167.15±10.00 <sup>2)</sup>	4.95±1.43 <sup>2)</sup>	20.67±5.03 <sup>2)</sup>
补冲调经方低剂量组	8	14.4	139.03±13.71	172.95±9.39	6.98±0.72	17.74±4.31
补冲调经方中剂量组	8	28.8	137.74±16.82	177.60±5.86	7.30±0.92	14.66±2.47
补冲调经方高剂量组	7	57.6	114.28±19.15 <sup>3)</sup>	179.51±6.27 <sup>3)</sup>	7.90±1.22 <sup>3)</sup>	12.16±4.75 <sup>4)</sup>
MCC950组	8	0.01	110.94±25.35 <sup>4)</sup>	181.20±6.38 <sup>4)</sup>	7.58±1.98 <sup>3)</sup>	13.62±4.98 <sup>3)</sup>

**3.5 对DOR大鼠卵巢组织NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4、TFR1和GPX4 mRNA表达的影响** 与正常组比较,模型组大鼠卵巢NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4和TFR1 mRNA相对表达量显著上调,GPX4 mRNA表达量显著下调( $P<0.01$ );与模型组

比较,补冲调经方中、高剂量组和MCC950组NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4和TFR1 mRNA相对表达量均有不同程度降低( $P<0.05, P<0.01$ ),GPX4的mRNA表达明显增加,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

表4 补冲调经方对DOR大鼠卵巢组织NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4、TFR1和GPX4 mRNA表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of Buchong Tiaojing prescription on expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, ACSL4, TFR1 and GPX4 mRNA in ovarian tissues of DOR rats ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	NLRP3	ASC	Caspase-1	ACSL4	TFR1	GPX4
正常组		1.00±0.04	1.00±0.14	1.00±0.13	1.00±0.10	1.00±0.17	1.00±0.38
模型组		1.84±0.30 <sup>2)</sup>	1.98±0.14 <sup>2)</sup>	2.30±0.16 <sup>2)</sup>	1.80±0.10 <sup>2)</sup>	1.95±0.24 <sup>2)</sup>	0.14±0.09 <sup>2)</sup>
补冲调经方低剂量组	14.4	1.60±0.29	1.76±0.15	2.02±0.19	1.62±0.22	1.83±0.17	0.57±0.22
补冲调经方中剂量组	28.8	1.14±0.22 <sup>4)</sup>	1.39±0.23 <sup>4)</sup>	1.64±0.23 <sup>4)</sup>	1.41±0.24 <sup>3)</sup>	1.27±0.15 <sup>4)</sup>	0.62±0.24 <sup>3)</sup>
补冲调经方高剂量组	57.6	0.98±0.17 <sup>4)</sup>	1.03±0.19 <sup>4)</sup>	1.58±0.16 <sup>4)</sup>	1.11±0.10 <sup>4)</sup>	1.29±0.27 <sup>4)</sup>	0.75±0.32 <sup>3)</sup>
MCC950组	0.01	1.15±0.33 <sup>4)</sup>	1.10±0.02 <sup>4)</sup>	1.55±0.15 <sup>4)</sup>	0.97±0.11 <sup>4)</sup>	1.06±0.14 <sup>4)</sup>	0.70±0.13 <sup>3)</sup>

**3.6 对DOR大鼠卵巢组织NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4、TFR1和GPX4蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4和

TFR1的蛋白表达显著增加,GPX4蛋白表达显著下降( $P<0.01$ );与模型组比较,补冲调经方中、高剂量组和MCC950组大鼠的卵巢NLRP3、ASC、Caspase-1、

ACSL4和TFR1的蛋白表达水平明显下降( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),各药物组GPX4蛋白表达明显提高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。见图3、表5。

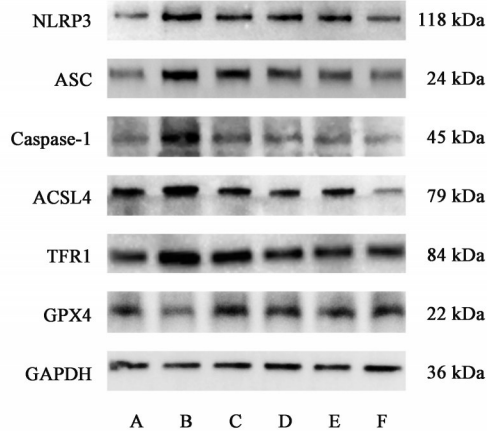


图3 DOR大鼠卵巢组织NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4、TFR1和GPX4蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of NLRP3, ASC, Caspase-1, ACSL4, TFR1 and GPX4 protein expression of DOR rat ovary tissue

3.7 对DOR大鼠卵巢组织氧化应激水平的影响  
与正常组比较,模型组大鼠卵巢组织SOD活性显著降低,MDA含量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,补冲调经方中、高剂量组和MCC950组卵巢组织SOD活性明显增加,MDA含量明显降低( $P<0.05$ )。见表6。

表5 补冲调经方对DOR大鼠卵巢组织NLRP3、ASC、Caspase-1、ACSL4、TFR1和GPX4蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of Buchong Tiaojing prescription on protein expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, ACSL4, TFR1 and GPX4 in ovarian tissues of DOR rats ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	NLRP3/GAPDH	ASC/GAPDH	Caspase-1/GAPDH	ACSL4/GAPDH	TFR1/GAPDH	GPX4/GAPDH
正常组		1.00±0.19	1.00±0.17	1.00±0.06	1.00±0.10	1.00±0.09	1.00±0.09
模型组		1.64±0.19 <sup>2)</sup>	1.67±0.18 <sup>2)</sup>	1.42±0.02 <sup>2)</sup>	1.45±0.06 <sup>2)</sup>	1.22±0.04 <sup>2)</sup>	0.71±0.03 <sup>2)</sup>
补冲调经方低剂量组	14.4	1.39±0.10	1.58±0.18	1.35±0.03	1.32±0.11	1.20±0.04	0.85±0.08 <sup>3)</sup>
补冲调经方中剂量组	28.8	1.12±0.20 <sup>4)</sup>	1.25±0.16 <sup>4)</sup>	1.20±0.05 <sup>4)</sup>	1.22±0.12 <sup>3)</sup>	1.02±0.03 <sup>4)</sup>	0.86±0.07 <sup>3)</sup>
补冲调经方高剂量组	57.6	1.08±0.08 <sup>4)</sup>	1.15±0.07 <sup>4)</sup>	1.19±0.07 <sup>4)</sup>	1.16±0.09 <sup>4)</sup>	0.96±0.02 <sup>4)</sup>	0.91±0.04 <sup>4)</sup>
MCC950组	0.01	1.03±0.12 <sup>4)</sup>	1.11±0.09 <sup>4)</sup>	1.14±0.06 <sup>4)</sup>	1.10±0.08 <sup>4)</sup>	0.98±0.07 <sup>4)</sup>	0.93±0.03 <sup>4)</sup>

表6 补冲调经方对DOR大鼠卵巢组织氧化应激水平的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 6 Effect of Buchong Tiaojing prescription on level of oxidative stress in ovarian tissues of DOR rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	SOD/ $U\cdot g^{-1}$	MDA/ $\mu mol\cdot g^{-1}$
正常组	8		23.48±4.45	4.87±1.67
模型组	8		16.59±3.63 <sup>2)</sup>	7.94±1.58 <sup>2)</sup>
补冲调经方低剂量组	8	14.4	20.31±2.33	7.86±1.46
补冲调经方中剂量组	8	28.8	21.26±3.39 <sup>3)</sup>	6.25±0.87 <sup>3)</sup>
补冲调经方高剂量组	7	57.6	21.71±4.11 <sup>3)</sup>	6.11±1.27 <sup>3)</sup>
MCC950组	8	0.01	21.30±4.18 <sup>3)</sup>	6.04±1.70 <sup>3)</sup>

#### 4 讨论

根据DOR的临床表现可将其归为中医“月经过少”“经水早断”“不孕”等范畴。中医认为,女性生殖功能与肾、脾、肝关系密切。《医学正传·妇人科》云:“月经全靠肾水施化,肾水既乏,则经血日以干涸”。肾藏精,为肾-天癸-冲任-胞宫生殖轴之主导,乃生殖之本。卵巢中的卵子即肾所藏之“阴精”,其生长发育及顺利排出赖于肾中阴阳的充盛与协调<sup>[9]</sup>。肾为先天,脾主后天,运化水谷。女性生殖能力的衰退从脾开始,“五七之年”,阳明脉衰,后天之本不济,则先天之本渐涸,月经难潮,胎孕难成<sup>[16]</sup>。肝肾同源,精血互资互生,共司胞宫藏泄。若肾虚久及于肝,加之妇女最易受七情所伤,导致肝气不舒,气血不和,经水不调,卵巢储备功能衰退<sup>[17]</sup>。由此,中医常将DOR的发病机制归为“脾肾两虚,肝郁气滞”,临床常采取补肾健脾、疏肝养血的治疗大法。补冲调经方是罗颂平教授在归肾丸和四君子汤基础上灵活加减,自拟而成的治疗DOR的经验方。方中菟丝子补肾益精,女贞子滋补肝肾,共为君药;当归补血活血,党参补中益气、健脾和胃,共为臣药;考虑到DOR患者未老先衰,忧思郁结,故再加佐药郁金行气解瘀,活血理气。全方动静结合,补而不滞,共奏补肾健脾、疏肝行气之功。现代药理学研究指出,补冲调经方中的活性成分如特女贞

苷、藁本内酯、姜黄素等能够显著改善细胞或机体的炎症损伤状态,降低氧化应激水平<sup>[10-12,18-19]</sup>。本研究结果显示,补冲调经方能够抑制大鼠衰老卵巢的炎症损伤和氧化应激,改善卵巢储备。

D-gal是一种还原糖,在体内大量蓄积能够导致机体氧化-抗氧化系统破坏,自由基堆积<sup>[19]</sup>。由于D-gal所诱导的衰老模型的老化过程的机制类似于自然老化,因此常被用于卵巢衰老模型的制备<sup>[20]</sup>。动情周期能反应大鼠体内的激素变化情况,本研究每日观察阴道脱落细胞变化评估大鼠卵巢功能,并参考前人经验<sup>[13,21-22]</sup>,采用在大鼠性周期开始紊乱之时即予以药物干预,该阶段相当于卵巢储备功能下降的隐匿阶段。结果发现,模型组大鼠出现动情周期紊乱现象,血清性激素水平异常,卵巢窦卵泡和成熟卵泡数目明显减少,闭锁卵泡数目增加。以上改变与DOR的临床表现有较高的拟合度,提示模型复制成功。在中药和MCC950干预后,大鼠动情周期基本恢复正常,血清性激素水平得到了显著改善,成熟卵泡数目增加,卵巢储备功能提高。

炎症小体是存在于细胞质中的多聚体蛋白复合物,在固有免疫和炎症反应中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。其中,NLRP3炎症小体是至今研究最深入、最全面的炎症小体类型,由“受体”(NLRP3)、“桥梁”(ASC)及“效应器”(Caspase-1)组成<sup>[24]</sup>。研究发现,在增龄性衰老小鼠、D-gal诱导的卵巢早衰小鼠卵巢内,以及早发性卵巢功能不全患者的卵巢颗粒细胞中,NLRP3炎症小体的表达呈升高趋势,而使用NLRP3抑制剂或体内敲除NLRP3基因能够显著增加小鼠卵巢中AMH水平,提高妊娠率和活产率<sup>[5,25]</sup>。MCC950是一种有效的NLRP3抑制剂,能够抑制炎症小体组装和功能<sup>[26]</sup>。既往有研究表明,MCC950处理仅抑制NLRP3活性,而不抑制蛋白表达<sup>[27]</sup>。然而本研究显示,与模型组比较,MCC950组大鼠卵巢NLRP3、ASC和Caspase-1的mRNA和蛋白表达显著下降,血清IL-1 $\beta$ 含量降低,机体炎症状态得到明显缓解,与一些学者的研究结果相似<sup>[5,28-29]</sup>。在改善DOR方面,补冲调经方能够发挥与MCC950相似的效果,抑制卵巢NLRP3炎症小体的表达,降低血清中促炎因子的水平,提高卵巢储备。

除了介导免疫炎症反应外,NLRP3炎症小体能够调节细胞ROS的产生,参与一系列氧化应激反应<sup>[30-31]</sup>。因此,NLRP3炎症小体在以脂质过氧化为核心的细胞铁死亡中也发挥关键作用<sup>[6]</sup>。铁死亡是

一种程序性细胞死亡形式,机体过量的游离活性铁和ROS引起脂质过氧化,导致细胞膜的氧化损伤,进而引发细胞死亡<sup>[32]</sup>。研究证实,在自然衰老和早衰的卵巢中均存在铁稳态失衡现象,铁死亡参与了卵巢衰老进程<sup>[33-34]</sup>。与前人研究结果相似,本研究发现DOR大鼠卵巢组织中铁死亡标志物ACSL4和TFR1的表达显著升高,GPX4的表达水平下降。卵巢中主要抗氧化酶SOD活性显著降低,而脂质过氧化产物MDA含量显著增加,提示DOR大鼠卵巢中的氧化-抗氧化系统被打破,氧化应激程度加剧,引发铁死亡。

NLRP3炎症小体和铁死亡在卵巢衰老的发生中均发挥着重要作用,然而关于二者的作用关系在卵巢中却研究甚少。本研究使用MCC950抑制NLRP3炎症小体的活性后,发现MCC950组大鼠卵巢ACSL4、TFR1的表达水平显著下降,GPX4的表达明显提高,脂质过氧化水平下降,铁死亡程度减轻,推测可能是因为NLRP3炎症小体被抑制后,机体炎症损伤程度得到缓解,氧化应激水平减弱,进而缓解DOR大鼠卵巢铁死亡。补冲调经方能够抑制NLRP3炎症小体的表达,改善卵巢氧化应激水平,减轻铁死亡程度,提高卵巢储备。

综上所述,补冲调经方能够改善DOR大鼠的卵巢炎症损伤和氧化应激,提高卵巢储备,这可能是通过抑制NLRP3炎症小体,进而缓解卵巢铁死亡来实现的。本研究关注了DOR大鼠卵巢的炎症损伤和铁死亡情况,并将二者进行了病理串话。然而,有研究显示,当采用铁死亡抑制剂减轻机体铁死亡后,NLRP3炎症小体能够随着铁死亡的程度而改变<sup>[6]</sup>。笔者推测这二者之间存在相互限制性和交互性,在DOR发病过程中可能存在恶性循环。因此,后续还需要进一步实验来挖掘二者更深层的关系,以及更深入探讨中药调控NLRP3炎症小体和铁死亡,提高卵巢储备的可能机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Practice Committee of The American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee opinion [J]. Fertil Steril, 2020, 114(6):1151-1157.
- [2] LI H, NAWSHERWAN, FAN C, et al. The trend in delayed childbearing and its potential consequences on pregnancy outcomes: A single center 9-years retrospective cohort study in Hubei, China [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2022, 22

- (1):514.
- [ 3 ] SNIDER A P, WOOD J R. Obesity induces ovarian inflammation and reduces oocyte quality [J]. *Reproduction*, 2019, 158(3):R79-R90.
- [ 4 ] DE SOUZA F H, DA SILVA C A, YAMAKAMI L Y, et al. Reduced ovarian reserve in patients with adult polymyositis [J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34 (10): 1795-1799.
- [ 5 ] NAVARRO-PANDO J M, ALCOCER-GÓMEZ E, CASTEJÓN-VEGA B, et al. Inhibition of the NLRP3 inflammasome prevents ovarian aging [J]. *Sci Adv*, 2021, 7 (1): eabc7409.
- [ 6 ] XIE S S, DENG Y, GUO S L, et al. Endothelial cell ferroptosis mediates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats by modulating NLRP3 inflammasome activation [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 3056.
- [ 7 ] GRADY D, HERRINGTON D, BITTNER V, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II) [J]. *JAMA*, 2002, 288 (1): 49-57.
- [ 8 ] 刘方, 罗颂平. 罗颂平治疗卵巢功能减退不孕症临证思路 [J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(8): 1609-1611.  
LIU F, LUO S P. Clinical experience of LUO Songping in treatment of primary ovarian insufficiency [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2017, 44(8): 1609-1611.
- [ 9 ] 吕孝丽, 郜洁, 周月希, 等. 罗颂平治疗卵巢储备功能下降不孕症经验 [J]. *中医杂志*, 2020, 61(13): 1139-1141.  
LV X L, GAO J, ZHOU Y X, et al. Luo Songping's experience in treating infertility caused by decreased ovarian reserve function [J]. *J Tradit Chin Med*, 2020, 61(13): 1139-1141.
- [ 10 ] 顾闻, 刘特, 陈久林, 等. 特女贞苷对血管内皮细胞氧化损伤的作用研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(9): 1093-1098.  
GU W, LIU T, CHEN J L, et al. Study on the effect of ligustroflavone on oxidative damage in vascular endothelial cells [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2018, 38(9): 1093-1098.
- [ 11 ] 施磊, 姜晨晨, 陆嘉珺, 等. 藜本内酯通过抑制铁死亡减轻 PC12 细胞 OGD/R 损伤的分子机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(11): 3046-3054.  
SHI L, JIANG C C, LU J J, et al. Molecular mechanism of atractylenolide alleviating OGD/R-induced injury in PC12 cells by inhibiting ferroptosis [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2023, 48(11): 3046-3054.
- [ 12 ] 马建福, 王豆, 李涛, 等. 郁金治疗卒中后抑郁的药理机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(7): 276-282.  
MA J F, WANG D, LI T, et al. Research progress on the pharmacological mechanism of curcuma in treating post-stroke depression [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(7): 276-282.
- [ 13 ] 何连利. Rg<sub>1</sub> 延缓 D-gal POF 小鼠模型生殖系统病理损害、改善生殖功能及其机制的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2017.  
HE L L. Study on the effect and mechanism of Rg<sub>1</sub> in delaying reproductive system pathological damage and improving reproductive function in D-gal POF mouse models [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2017.
- [ 14 ] CRUZ G, FERNANDOIS D, PAREDES A H. Ovarian function and reproductive senescence in the rat: Role of ovarian sympathetic innervation [J]. *Reproduction*, 2017, 153 (2): R59-R68.
- [ 15 ] 赵伟, 孙国志. 不同种实验动物间用药量换算 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2010, doi: 10.3969/J. ISSN. 1671-6027. 2010. 05. 032.  
ZHAO W, SUN G Z. Dosage conversion among different experimental animals [J]. *Anim Husb Vet Med Sci Technol Inf*, 2010, doi: 10.3969/J. ISSN. 1671-6027. 2010. 05. 032.
- [ 16 ] 朱玲, 罗颂平. 罗颂平从阴阳论治卵巢早衰 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2020, 26(6): 841-843.  
ZHU L, LUO S P. Luo Songping's treatment of premature ovarian failure based on yin-yang theory [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2020, 26(6): 841-843.
- [ 17 ] 邓咏诗, 郜洁, 廖秀平, 等. 罗颂平教授论治肾虚肝郁型月经不凋经验 [J]. *环球中医药*, 2020, 13(7): 1261-1263.  
DENG Y S, GAO J, LIAO X P, et al. Professor Luo Songping's experience in treating menstrual disorders caused by kidney deficiency and liver depression [J]. *Glob Tradit Chin Med*, 2020, 13(7): 1261-1263.
- [ 18 ] 谢颖, 萧冈, 江晓翠, 等. 基于脂质与动脉粥样硬化通路探讨菟丝子防治卵巢早衰的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(6): 109-118.  
XIE Y, XIAO M, JIANG X C, et al. Mechanism of *Cuscuta chinensis* in preventing and treating premature ovarian failure based on lipid and atherosclerosis pathways [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(6): 109-118.
- [ 19 ] ALEJANDRO S P. ER stress in cardiac aging, a current view on the D-galactose model [J]. *Exp Gerontol*, 2022, 169: 111953.
- [ 20 ] HE L, WANG X, CHENG D, et al. Ginsenoside Rg<sub>1</sub> improves pathological damages by activating the p21-p53-STK pathway in ovary and Bax-Bcl2 in the uterus in premature ovarian insufficiency mouse models [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23 (1): 37.
- [ 21 ] 江银, 王徽, 于潇, 等. 枸杞多糖调控 AMPK/Sirt 自噬途径延缓 D-gal 诱导的卵巢早衰的机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(22): 6175-6182.  
JIANG Y, WANG H, YU X, et al. Mechanism of *Lycium barbarum* polysaccharides in delaying D-gal-induced premature ovarian failure by regulating the AMPK/Sirt autophagy pathway [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2022, 47 (22): 6175-6182.
- [ 22 ] 刘小虎, 赵志慧, 周玥, 等. PI3K/Akt/mTOR 自噬通路在人

- 参皂苷 Rg<sub>1</sub> 延缓 D-gal 诱导的卵巢早衰小鼠模型卵巢早衰中的作用[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 6036-6042.
- LIU X H, ZHAO Z H, ZHOU Y, et al. Role of the PI3K/Akt/mTOR autophagy pathway in delaying D-gal-induced premature ovarian failure in mice by ginsenoside Rg<sub>1</sub> [J]. Chin J Chin Mater Med, 2020, 45(24): 6036-6042.
- [23] SCHRODER K, TSCHOPP J. The inflammasomes[J]. Cell, 2010, 140(6): 821-832.
- [24] SWANSON K V, DENG M, TING J P. The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation to therapeutics[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(8): 477-489.
- [25] LLIBEROS C, LIEW S H, MANSELL A, et al. The inflammasome contributes to depletion of the ovarian reserve during aging in mice [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 628473.
- [26] TAPIA-ABELLÁN A, ANGOSTO-BAZARRA D, MARTÍNEZ-BANACLOCHA H, et al. MCC950 closes the active conformation of NLRP3 to an inactive state [J]. Nat Chem Biol, 2019, 15(6): 560-564.
- [27] COLL R C, ROBERTSON A A, CHAE J J, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases [J]. Nat Med, 2015, 21(3): 248-255.
- [28] 卢鸽, 解子婧, 汪倩, 等. 针刺对卵巢储备功能减退模型大鼠血清炎症因子及卵巢组织 Nrf2/HO-1/NLRP3 信号通路的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(15): 1350-1356.
- LU G, XIE Z J, WANG Q, et al. Effect of acupuncture on serum inflammatory factors and Nrf2/HO-1/NLRP3 signaling pathway in ovarian reserve decline model rats [J]. J Tradit Chin Med, 2020, 61(15): 1350-1356.
- [29] LIU K, WU Y, YANG W, et al.  $\alpha$ -Ketoglutarate improves ovarian reserve function in primary ovarian insufficiency by inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis of granulosa cells [J]. Mol Nutr Food Res, 2024, 68(5): e2300784.
- [30] WU X, WANG B, ZHOU Y, et al. NLRP3 inflammasome inhibitor MCC950 reduces cerebral ischemia/reperfusion induced neuronal ferroptosis [J]. Neurosci Lett, 2023, 795: 137032.
- [31] TSCHOPP J, SCHRODER K. NLRP3 inflammasome activation: The convergence of multiple signalling pathways on ROS production? [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(3): 210-215.
- [32] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282.
- [33] SZE S C W, ZHANG L, ZHANG S, et al. Aberrant transferrin and ferritin upregulation elicits iron accumulation and oxidative inflammaging causing ferroptosis and undermines estradiol biosynthesis in aging rat ovaries by upregulating NF- $\kappa$ B-activated inducible nitric oxide synthase: First demonstration of an intricate mechanism [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(20): 12689.
- [34] 赵敏, 张金融, 华江环, 等. 基于 SLC7A11/GPX4 通路调控铁死亡探讨左归丸对环磷酰胺所致卵巢早衰大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(17): 60-66. .
- ZHAO M, ZHANG J R, HUA J H, et al. Zuoguiwan treats cyclophosphamide-induced premature ovarian failure by regulating SLC7A11/GPX4 pathway to inhibit ferroptosis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(17): 60-66.

[责任编辑 孙丛丛]